

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.05.005

· 基础研究 ·

沉默 *CHD1L* 对前列腺癌 PC3 细胞恶性生物学行为的影响及其可能机制

崔发财¹, 陈瑜², 秦望森¹ (1. 河南省人民医院 检验科, 河南 郑州 450003; 2. 郑州大学附属肿瘤医院 病理科, 河南 郑州 450008)

[摘要] **目的:**探讨染色质解旋酶 DNA 结合蛋白 1 样基因(chromodomain helicase/ATPase DNA binding protein 1-like gene, *CHD1L*)对前列腺癌细胞侵袭、迁移能力的影响及其可能的作用机制。**方法:**采用实时荧光定量 PCR 技术检测前列腺癌细胞株 LNCAP、PC3、DU145 以及前列腺上皮细胞株 RWPE-1 中 *CHD1L* mRNA 表达水平;转染 siRNA 干扰前列腺癌 PC3 细胞 *CHD1L* 的表达,并用 Transwell 侵袭实验和划痕实验分析沉默 *CHD1L* 对前列腺癌细胞侵袭和迁移能力的影响;Western blotting 检测 PC3 细胞 MMP-9、N-钙黏蛋白和 E-钙黏蛋白的表达水平。**结果:***CHD1L* mRNA 在前列腺癌细胞中的表达水平明显高于前列腺上皮细胞 ($P < 0.01$),其中以前列腺癌 PC3 细胞的表达水平最高。侵袭实验中,干扰组的穿膜细胞数明显低于阴性对照组和空白对照组 (49.67 ± 6.67) vs (113.67 ± 5.69)和 (112.00 ± 12.49)个, $P < 0.05$)。划痕实验中,干扰组 48 h 伤口愈合率也低于阴性对照组和空白对照组 [21.27 ± 3.27]% vs [48.47 ± 5.72]% 和 [49.93 ± 3.35]% , $P < 0.05$]。干扰组细胞 MMP-9 和 N-钙黏蛋白表达下调,E-钙黏蛋白表达上调。**结论:**沉默 *CHD1L* 可降低前列腺癌 PC3 细胞的侵袭迁移能力,该作用可能是通过调控 MMP-9 和 EMT 相关蛋白表达实现的。

[关键词] 前列腺癌;染色质解旋酶 DNA 结合蛋白 1 样基因;侵袭;迁移

[中图分类号] R730.54; R737.25

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2017)05-0484-06

Effect of *CHD1L* gene silencing on malignant biologic behaviors of prostate cancer PC3 cell line and its possible mechanism

CUI Facai¹, CHEN Yu², QIN Wangsen¹ (1. Clinical Laboratory, Henan Province People's Hospital, Zhengzhou 450003, Henan, China; 2. Department of Pathology, Affiliated Tumor Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450008, Henan, China)

[Abstract] **Objective:**To explore the influence of *CHD1L* gene (chromodomain helicase/ATPase DNA binding protein 1-like gene) on the invasion and migration ability of prostate cancer cells and the potential mechanisms. **Methods:** Real-time fluorescent quantitative-PCR assay was carried out to detect mRNA expression of *CHD1L* gene in prostate cancer cell lines LNCAP, PC3 and DU 145 as well as normal prostate epithelial cell line RWPE-1. siRNA transfection was used to deplete *CHD1L* expression in PC3 cells. Then Transwell invasion assay and wound healing test were employed to detect the effect of *CHD1L* silencing on the invasion and migration ability of PC3 cells. Protein expressions of MMP-9, N-cadherin and E-cadherin were examined by Western blotting assay. **Results:** Compared to normal prostate epithelial cells, three prostate cancer cell lines all showed significantly higher expression of *CHD1L* mRNA ($P < 0.01$), and PC3 cells demonstrated the highest *CHD1L* mRNA expression. Invasion assay showed that the trans-membrane cell number in *CHD1L* silencing group was significantly lower than that in negative and blank control groups (49.67 ± 6.67 vs 113.67 ± 5.69 and 112.00 ± 12.49 , $P < 0.05$). Wound healing test also exhibited lower healing degree in *CHD1L* silencing group than that in negative and blank control groups at 48 h ($[21.27 \pm 3.27]\%$ vs $[48.47 \pm 5.72]\%$ and $[49.93 \pm 3.35]\%$, respectively, $P < 0.05$). Furthermore, protein expressions of MMP-9 and N-cadherin decreased while E-cadherin increased in

[基金项目] 河南省医学科技攻关计划项目(No. 201303155)。Project supported by the Key Task Project in Medical Science Research Program of Henan Province(No. 201303155)

[作者简介] 崔发财(1985-),男,硕士,主管技师,主要从事肿瘤的个体化诊断及治疗研究,E-mail:cuiyacai1@163.com

[通信作者] 秦望森(QIN Wangsen, corresponding author),副主任医师,主要从事临床疾病的生化诊断研究,E-mail:Qws2536@126.com

[优先发表] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20170509.1027.012.html>

CHD1L gene depletion cells. **Conclusions:** *CHD1L* silencing could dampen the invasion and migration ability of prostate cancer PC3 cell line, and this might be accomplished by regulating MMP-9 and EMT related proteins.

[**Key words**] prostate cancer; chromodomain helicase/ATPase DNA binding protein 1-like(*CHD1L*) gene; invasion; migration

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(5): 484-489. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.05.005]

前列腺癌(prostate cancer, PCa)在欧美国家男性中的发病率和病死率分别居于第一位和第二位。随着人口老龄化和饮食结构的改变,我国前列腺癌患者数量正在以每年 10% 的速度递增^[1]。统计资料^[2]表明,局限性 PCa 患者的 5 年生存率几乎达到 100%,但发生远处转移的 PCa 患者 5 年生存率却只有 28%,转移的发生已经成为严重制约提高 PCa 患者长期生存率的瓶颈。近年来研究发现多种癌基因参与了 PCa 的侵袭转移过程,这为 PCa 的诊断、治疗和预后提供了一定的理论基础,但目前尚缺乏有效的肿瘤标志物来对 PCa 的早期转移进行预警。染色质解旋酶 DNA 结合蛋白 1 样基因(chromodomain helicase/ATPase DNA binding protein 1-like gene, *CHD1L*)属于肝癌特异性表达基因,定位于染色体 1q21 区域,在肝癌的发生发展过程中发挥促上皮-间质细胞转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)和抗细胞凋亡作用,因此被确定为一种致癌基因^[3]。*CHD1L* 过表达与乳腺癌、肺腺癌、结肠癌及神经胶质瘤的侵袭、转移以及预后密切相关^[4-7]。然而 *CHD1L* 的表达水平与 PCa 侵袭转移的关系研究目前鲜有报道。本课题通过检测前列腺癌细胞株 *CHD1L* 的表达水平,旨在探讨 *CHD1L* 对前列腺癌细胞侵袭迁移能力的影响和可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞株及主要试剂

前列腺癌细胞株 LNCAP、PC3、DU145 以及正常前列腺上皮细胞株 RWPE-1 购自中科院细胞库,并保存在河南省人民医院中心实验室。胎牛血清(FBS)、RPMI1640、K-SFM、rEGF 和牛垂体提取物(BPE)均购自美国 Gibco 公司,小鼠 *CHD1L* 单克隆抗体、一抗兔抗鼠 MMP-9、N-钙黏蛋白、E-钙黏蛋白抗体和内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)多克隆抗体均购自英国 Abcam 公司,HRP 标记羊抗鼠二抗购于长沙南科生物技术有限公司,脂质体 Lipofectamine® 2000 购自美国 Invitrogen 公司,RT-PCR 试剂盒及 TRIzol 购自加拿大 Fermentas 公司,SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒购自美国 ABI 公司,Transwell 小室购自美国 Corning 公司。*CHD1L* 阳性

干扰序列(si-*CHD1L*)及阴性对照序列(si-CTRL)均由上海吉凯基因公司设计合成,序列分别为: 5'-CAAGAGAAGGAGACTCATA-3' 和 5'-TTCTCCGAACGTGTCACGT-3'。

1.2 细胞培养与转染

前列腺癌细胞株用含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养液,置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养;前列腺上皮细胞株 RWPE-1 用角化细胞无血清培养基 K-SFM 置于 37 °C、5% CO₂ 的养箱中培养。实验分为阴性对照组(siRNA-CTRL PC3)、空白对照组(PC3)和干扰组(siRNA-*CHD1L* PC3)。转染前一天将前列腺癌细胞株接种于 6 孔板(5 × 10⁴ /孔),细胞汇合率达到 70% 后加入 siRNA-Lipofectamine@ 2000 混合物,37 °C、5% CO₂ 培养箱孵育 24 ~ 72 h,荧光显微镜下观察转染阳性细胞数量,当转染率达到 80% 以上并且经 Western blotting 实验验证 *CHD1L* 蛋白表达显著下调,则认为细胞转染成功,可用于后续实验。

1.3 实时荧光定量 PCR 检测各前列腺癌细胞 *CHD1L* 表达水平

根据 TRIzol 操作说明书提取前列腺癌细胞及 RWPE-1 细胞总 RNA。按照逆转录试剂盒说明书,以提取的总 RNA 为模板进行逆转录反应合成 cDNA。按照 SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒说明进行实时荧光定量 PCR 检测。*CHD1L* 基因上游引物为 5'-GGTGGAGTTGGCATGAACCTT-3',下游引物为 5'-CACTCAACTGGAGGTCAGCA -3';以 β -actin 为内参,上游引物为 5'-TCCTGTGGCATCCACGA AACT-3',下游引物为 5'-GAAGCATTTGCGGTG-GACGAT-3'。*CHD1L* 扩增条件为 95 °C 5 min、94 °C 20 s、72 °C 20 s,共计 40 个循环。于 60 °C ~ 95 °C 之间分析融解曲线,条件设置为升温幅度 0.5 °C/次、5 s/次。采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct}(RQ)法处理数据。

1.4 Western blotting 检测沉默 *CHD1L* 对 MMP-9、E-钙黏蛋白和 N-钙黏蛋白表达的影响

提取各实验组细胞总蛋白,用 Bradford 法测定蛋白质浓度。蛋白上样量为 50 μ g,12% SDS PAGE 1.5 h 后,将蛋白转移到 PVDF 膜,用 1% BSA 封闭过夜,加入一抗 37 °C 孵育 2 h, TBST 漂洗,加入羊抗

鼠二抗(1:5 000 稀释)37℃孵育1h, TBST漂洗, 采用ECL化学发光法显影, 用Image J软件分析条带灰度值。实验重复3次。

1.5 Transwell侵袭实验检测沉默*CHD1L*对PC3细胞侵袭能力的影响

将Matrigel胶按50 μl/孔铺在Transwell小室底部微孔聚碳酸膜上(孔径8.0 μm, 滤膜直径6.5 mm), 恒温孵育2h成胶。调整干扰组、阴性对照组和空白对照组细胞密度为 5×10^4 个/ml, 小室上室分别加入200 μl各实验组细胞悬液并套入下室, 下室加入500 μl含15% FBS的PRMI 1640培养液, 37℃培养箱常规培养48h后取出小室, 并用70%甲醇固定30 min, 消毒棉签擦去上室内面的Matrigel和未穿越的细胞, 结晶紫染色, 在高倍镜视野下计数小室下面细胞数即为穿膜细胞数。实验重复3次。

1.6 划痕实验检测沉默*CHD1L*对PC3细胞迁移能力的影响

将干扰组及对照组细胞以 5×10^5 个/ml密度接种于消毒灭菌的培养皿中进行过夜培养, 当细胞长满整个培养皿底部后用200 μl无菌枪头在培养皿底部沿直线划痕, PBS将细胞轻柔洗涤2次, 加入无血清培养基并放入培养箱常规培养, 在0h和48h分别取样拍照, 采用ImageJ 1.37软件分析划痕宽度。实验重复3次。划痕愈合率(%) = (初始划痕宽度值 - 对应时间点划痕宽度值) / 初始划痕宽度值 × 100%。

1.7 统计学处理

采用SPSS 17.0软件, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两样本比较采用 t 检验, 多组样本比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 前列腺癌细胞*CHD1L* mRNA高表达

实时荧光定量PCR检测结果显示, 前列腺癌LNCAP、PC3、DU145细胞中*CHD1L* mRNA表达水平显著高于前列腺RWPE-1细胞[(7.05 ± 0.24)、(11.33 ± 1.23)、(8.60 ± 1.39) vs (2.20 ± 0.30); $F = 25.937, P < 0.01$], 其中前列腺癌PC3细胞*CHD1L* mRNA表达水平最高, 因此选择PC3细胞进行后续实验。

2.2 沉默*CHD1L*降低PC3细胞*CHD1L*蛋白表达水平

采集转染效率最高的转染后48h时间点样本, 通过荧光镜下视野与光镜下视野对比细胞数量可见,

细胞转染效率达到80%以上(图1A)。Western blotting实验验证*CHD1L*基因干扰后前列腺癌PC3细胞中*CHD1L*蛋白表达水平较干扰前明显下降(图1B)。si-*CHD1L*成功转染PC3细胞, 可用于后续实验。

2.3 沉默*CHD1L*降低PC3细胞的侵袭能力

Transwell侵袭试验结果(图2)显示, 干扰组的穿膜细胞数明显低于阴性对照组和空白对照组[(49.67 ± 6.67) vs (113.67 ± 5.69)、(112.00 ± 12.49)个, $F = 7.683, P < 0.05$]。表明沉默*CHD1L*可显著降低前列腺癌PC3细胞的侵袭能力。

2.4 沉默*CHD1L*减弱PC3细胞的迁移能力

对比分析干扰组和对照组细胞0h和48h的划痕实验图片(图3), 各组PC3细胞在0h均形成边缘整齐且锐利的划痕, 划痕宽度无显著差异; 48h时, 干扰组伤口愈合率明显低于阴性对照组和空白对照组[(21.27 ± 3.27)% vs (48.47 ± 5.72)%、(49.93 ± 3.35)% , $F = 10.682, P < 0.05$]。表明沉默*CHD1L*可以显著减弱前列腺癌PC3细胞的迁移能力。

2.5 沉默*CHD1L*后PC3细胞MMP-9、E-钙黏蛋白和N-钙黏蛋白表达的变化

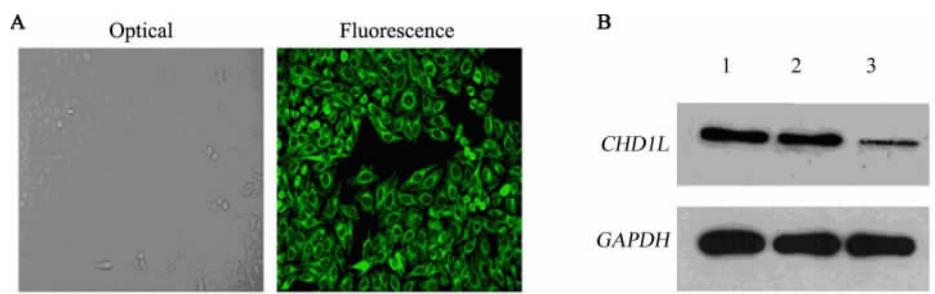
Western blotting检测结果(图4)显示, 与对照组相比较, 干扰组细胞中MMP-9和N-钙黏蛋白表达显著下调($P < 0.05$), E-钙黏蛋白表达显著上调($P < 0.05$)。空白对照组和阴性对照组中MMP-9、E-钙黏蛋白、N-钙黏蛋白的表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

*CHD1L*属于SNF-2基因家族成员的一种, 具有高度保守的解旋酶功能, 在细胞的转录调节、DNA修复及维持染色体端粒完整性方面发挥着重要作用^[8]。有研究^[9]发现, *CHD1L*异常表达与某些肿瘤的发生发展、侵袭、转移过程密切相关, *CHD1L*特有的C末端能够结合并抑制Nur77蛋白的核线粒体转位, 从而阻断Nur77介导的细胞凋亡; *CHD1L*通过下调视网膜细胞瘤蛋白、肿瘤蛋白P53及P53下游周期素依赖性激酶抑制剂1A和上调周期素E及细胞周期素依赖性激酶2复合物促进细胞增殖, 促进G1/S期的过渡和抑制细胞凋亡^[10]。此外, 对肝癌细胞的研究^[11]发现, *CHD1L*过表达可激活蛋白聚糖1(SPOCK1)介导的Akt信号通路, 抑制细胞色素C的释放, 阻碍MMP-3和MMP-9的激活, 在抑制细胞凋亡、促进细胞侵袭迁移方面发挥重要作用。在多发性骨髓瘤的研究^[12]中也发现, *CHD1L*可通过调

控 MMP-3/MMP-9 凋亡信号通路发挥抗肿瘤细胞凋亡作用。*CHD1L* 还可以通过调控 PI3K/AKT/

ARK5/mTOR 信号通路参与乳腺癌的侵袭和转移。



A: Cell counting under the light and fluorescence microscopic fields after transfection ($\times 200$);

B: Western blotting assay; 1:PC3; 2: si-CTRL PC3; 3: si-CHD1L PC3

图 1 成功获取 *CHD1L* 低表达的 PC3 细胞

Fig.1 The PC3 cells with low expression of *CHD1L* were successfully constructed

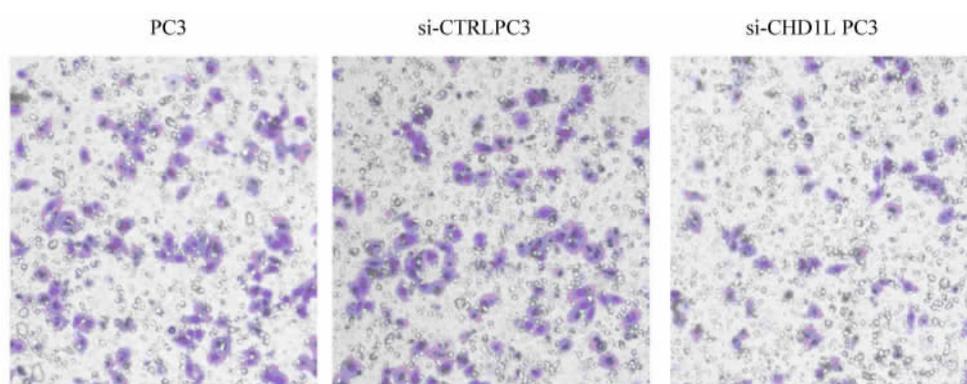


图 2 沉默 *CHD1L* 对前列腺癌 PC3 细胞侵袭能力的影响(结晶紫染色, $\times 200$)

Fig.2 Effect of *CHD1L* silencing on the invasion ability of prostate cancer PC3 cells (Crystal violet staining, $\times 200$)

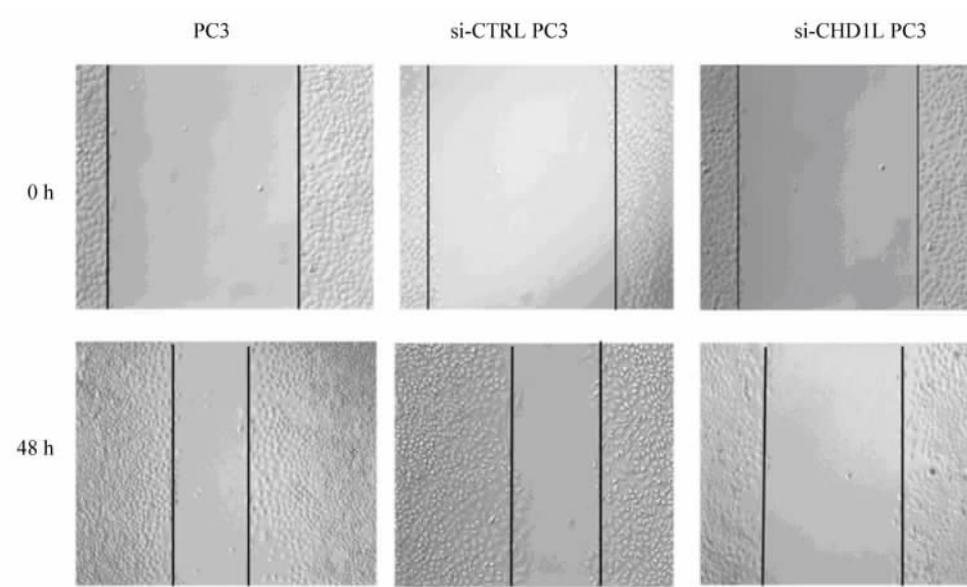
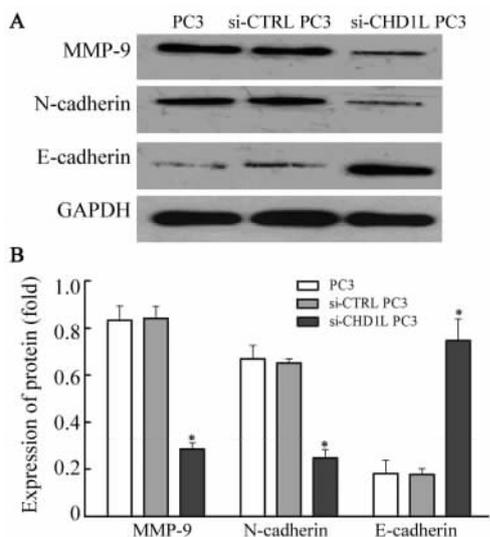


图 3 沉默 *CHD1L* 对前列腺癌细胞迁移能力的影响(划痕试验)

Fig. 3 Effect of *CHD1L* silencing on the migration ability of prostate cancer PC3 cells (Scratch assay)



* $P < 0.05$ vs si-CTRL PC3 or PC3 groups
 A: Western blotting assay; B: Columnar map for relative expression of protein

图4 前列腺癌 PC3 细胞 MMP-9、E-钙黏蛋白和 N-钙黏蛋白表达

Fig.4 Expressions of MMP-9, E-cadherin and N-cadherin proteins in prostate cancer PC3 cells after silencing CHD1L

为了研究 CHD1L 的表达水平与前列腺癌侵袭转移的关系,首先通过实时荧光定量 PCR 技术检测 CHD1L mRNA 在不同特性前列腺癌细胞株及前列腺上皮细胞株 RWPE-1 中的表达情况,结果显示 CHD1L 在前列腺癌中的表达水平明显高于正常上皮细胞($P < 0.01$),并且在前列腺癌 PC3 细胞中的表达水平最高。其次,通过 RNA 干扰技术沉默 CHD1L 基因后发现,前列腺癌 PC3 细胞的侵袭转移能力较干扰前发生显著下降($P < 0.05$),表明沉默 CHD1L 可抑制前列腺癌细胞的侵袭转移能力。

有研究^[13-14]发现,EMT 在前列腺癌的转移过程中发挥着重要作用,EMT 促进细胞极性及其细胞间黏合能力的丢失,前列腺癌细胞进而获得间质表型而具有侵袭细胞外基质(extracellular matrix, ECM)和向远处转移的能力。E-钙黏蛋白和 N-钙黏蛋白是 EMT 过程中的关键组件,E-钙黏蛋白是肿瘤转移抑制基因,其表达下调及相应间质细胞 N-钙黏蛋白的表达上调被认为参与了前列腺癌的侵袭转移过程。另有研究^[15-16]发现,AKT/ERK 信号通路、PI3K-Akt/mTOR/MAPK 信号通路均参与了前列腺癌细胞的 EMT 机制。MMP-9 蛋白属于锌依赖肽链内切酶类家族成员,其异常表达可通过促进 ECM 的降解和重

排,在促进细胞的迁移和侵袭过程中发挥重要作用^[17-19]。Chen 等^[20]研究发现,SPOCK1 蛋白在前列腺癌中高表达,沉默 SPOCK1 可通过下调 MMP-3 和 MMP-9 表达,减弱前列腺癌的侵袭迁移能力。在肝癌及乳腺癌的研究中已经发现,CHD1L 基因可通过调控 SPOCK1 及 AKT 相关信号通路参与肿瘤细胞的侵袭转移。笔者推测,CHD1L 可能通过上述机制参与调控前列腺癌细胞 MMP-9 及 EMT 相关蛋白的表达。为深入探讨 CHD1L 影响细胞侵袭及迁移的可能机制,本研究通过 Western blotting 技术检测细胞转染前后 MMP-9、EMT 相关蛋白 N-钙黏蛋白和 E-钙黏蛋白的表达水平变化,发现干扰组细胞 MMP-9 和 N-钙黏蛋白表达下调、E-钙黏蛋白表达上调,结果表明沉默 CHD1L 可通过抑制 MMP-9 和 N-钙黏蛋白表达,上调 E-钙黏蛋白表达而降低前列腺癌 PC3 细胞的侵袭迁移能力。

综上所述,CHD1L 可通过调控 MMP-9 蛋白和 EMT 相关蛋白表达参与前列腺癌细胞的侵袭转移机制,CHD1L 可能作为前列腺癌转移预警的候选肿瘤标志物。

[参考文献]

[1] WONG M C, WANG H H, FUNQ F D, et al. Global Incidence and mortality for prostate cancer: analysis of temporal patterns and trends in 36 countries[J]. Eur Urol, 2016, 70(5): 862-874. DOI: 10. 1016/j. eururo. 2016. 05. 043.

[2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(1): 5-29. DOI:10. 3322/caac. 21254.

[3] CHEN L, CHAN T H, GUAN X Y. Chromosome 1q21 amplification and oncogenes in hepatocellular carcinoma[J]. Acta Pharmacol Sin, 2010, 31(9): 1165-1171. DOI:10. 1038/aps. 2010. 94.

[4] MU Q J, LI H L, YAO Y, et al. Chromodomain helicase/ATPase DNA-binding protein 1-like gene (CHD1L) expression and implications for invasion and metastasis of breast cancer[J/OL]. PLoS One, 2015, 10(11): e143030[2016-11-02]. https://www. ncbi. nlm. nih. gov/pmc/articles/PMC4657932/. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0143030.

[5] HE L R, MA N F, CHEN J W, et al. Overexpression of CHD1L is positively associated with metastasis of lung adenocarcinoma and predicts patients poor survival[J]. Oncotarget, 2015, 6(31): 31181-31190. DOI: 10. 18632/oncotarget. 5070.

[6] JI X, LI J, ZHU L, et al. CHD1L promotes tumor progression and predicts survival in colorectal carcinoma[J]. J Surg Res, 2013, 185(1): 84-91. DOI:10. 1016/j. jss. 2013. 05. 008.

[7] SUN J, ZHANG L, ZHAO H, et al. CHD1L regulates cell cycle, apoptosis, and migration in glioma[J]. Cell Mol Neurobiol, 2016, 36(4): 565-576. DOI: 10. 1007/s10571-015-0237-z.

- [8] CHENG W, SU Y, XU F. CHD1L: a novel oncogene[J/OL]. Mol Cancer, 2013, 12(1): 170[2016-11-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3931672/>. DOI: 10.1186/1476-4598-12-170.
- [9] CHEN L, HU L, CHAN T H, et al. Chromodomain helicase/adenosine triphosphatase DNA binding protein 1-like (CHD1L) gene suppresses the nucleus-to-mitochondria translocation of nur77 to sustain hepatocellular carcinoma cell survival[J]. Hepatology, 2009,50(1):122-129. DOI:10.1002/hep.22933.
- [10] MA N F, HU L, FUNG J M, et al. Isolation and characterization of a novel oncogene, amplified in liver cancer 1, within a commonly amplified region at 1q21 in hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2008, 47(2): 503-510. DOI:10.1002/hep.22072.
- [11] LI Y, CHEN L, CHAN T H, et al. SPOCK1 is regulated by CHD1L and blocks apoptosis and promotes HCC cell invasiveness and metastasis in mice [J]. Gastroenterology, 2013, 144(1): 179-191. DOI:10.1053/j.gastro.2012.09.042.
- [12] XU X, HE Y, MIAO X, et al. Cell adhesion induces overexpression of chromodomain helicase/ATPase DNA binding protein 1-like gene (CHD1L) and contributes to cell adhesion-mediated drug resistance(CAM-DR) in multiple myeloma cells[J/OL]. Leuk Res, 2016, 47: 54-62[2016-11-02]. <http://sciencedirect.com/science/journal/01452126>. DOI: 10.1016/j.leukres.2016.05.007.
- [13] WANG L, SONG G, TAN W, et al. MiR-573 inhibits prostate cancer metastasis by regulating epithelial-mesenchymal transition [J]. Oncotarget, 2015, 6(34): 35978-35990. DOI:10.18632/oncotarget.5427.
- [14] ZUO J, GUO Y, PENG X, et al. Inhibitory action of pristimerin on hypoxiamediated metastasis involves stem cell characteristics and EMT in PC-3 prostate cancer cells[J]. Oncol Rep, 2015, 33(3): 1388-1394. DOI: 10.3892/or.2015.3708.
- [15] LIM M, CHUONQ C M, ROY-BURMAN P. PI3K, Erk signaling in BMP7-induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) of PC-3 prostate cancer cells in 2-and 3-dimensional cultures[J]. Horm Cancer, 2011, 2(5): 298-309. DOI: 10.1007/s12672-011-0084-4.
- [16] KHAN M I, HAMID A, ADHAMI V M, et al. Role of epithelial mesenchymal transition in prostate tumorigenesis[J]. Curr Pharm Des, 2015, 21(10): 1240-1248. DOI:10.2174/1381612821666141211120326.
- [17] MOROZ A, DELELLA F K, ALMEIDA R, et al. Finasteride inhibits human prostate cancer cell invasion through MMP2 and MMP9 downregulation[J/OL]. PLoS One, 2013, 8: e84757 [2016-11-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3875555/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0084757.
- [18] FIORENTINI C, BODEI S, BEDUSSI F, et al. GPNMB/OA protein increases the invasiveness of human metastatic prostate cancer cell lines DU145 and PC3 through MMP-2 and MMP-9 activity [J]. Exp Cell Res, 2014, 323(1): 100-111. DOI:10.1016/j.yexcr.
- [19] YANG Y, JIAO L, HOU J, et al. Dishevelled-2 silencing reduces androgen-dependent prostate tumor cell proliferation and migration and expression of Wnt-3a and matrix metallo- proteinases[J]. Mol Biol Rep, 2013, 40(7): 4241-4250. DOI:10.1007/s11033-013-2506-6.
- [20] CHEN Q, YAO Y T, XU H, et al. SPOCK1 promotes tumor growth and metastasis in human prostate cancer[J/OL]. Drug Des Devel Ther, 2016, 10: 2311-2321[2016-11-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4958368/>. DOI: 10.2147/DDDT.S91321.

[收稿日期] 2016 - 12 - 05

[修回日期] 2017 - 02 - 15

[本文编辑] 党瑞山

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中数字用法的要求

本刊严格执行国家标准《出版物上数字用法的规定》，文稿中凡是可以使用阿拉伯数字且很得体的地方，均应使用阿拉伯数字。（1）公历世纪、年代、年、月、日和时、时刻必须使用阿拉伯数字，如 20 世纪 90 年代、2006 - 02 - 15、5 h、30 min、30 s、14: 36: 08 等；年份不能用简称，“1998 年”不能写作“98 年”。（2）物理量量值必须使用阿拉伯数字。（3）非物理量量词前面数字一般也应使用阿拉伯数字，如 3 支、5 根等。（4）数值范围的表达要求：5 万至 10 万应写成 5 万 ~ 10 万，不能写成 5 ~ 10 万； 3×10^9 至 5×10^9 应写成 $3 \times 10^9 \sim 5 \times 10^9$ ，或 $(3 \sim 5) \times 10^9$ ，不能写成 $3 \sim 5 \times 10^9$ ；60% 至 70% 不能写成 60 ~ 70%，应写成 60% ~ 70%； 25.5 ± 0.5 mg 应写成 (25.5 ± 0.5) mg。（5）带单位的量值相乘时，每个数值后单位不能省略，如 4 mm × 2 mm × 3 mm，不能写成 4 × 2 × 3 mm 或 $4 \times 2 \times 3 \text{ mm}^3$ 。

(本刊编辑部)